

## **VALIDATION D'UN OUTIL MOLÉCULAIRE NOVATEUR POUR L'IDENTIFICATION DES LÉPIDOPTÈRES RAVAGEURS DES CULTURES**

**Daniel Cormier, Annabelle Firlej, Richard Hogue, Jean-Philippe Légaré, Jean-François Landry, Gérald Chouinard, Mario Fréchette, Thomas Jeanne et Franz Vanoosthuysse.**

**No. de projet :** 810233

**Durée** 05/2011-11/2013

### **FAITS SAILLANTS**

La technique d'identification par codage à barres ADN permet l'identification taxonomique des adultes et des larves de lépidoptères ravageurs des cultures au Québec. Sa mise en application immédiate est possible mais nécessite cependant certaines précautions car la conservation des spécimens et l'extraction ADN sont les étapes les plus critiques de cette méthode. Les résultats montrent que la fraîcheur des papillons et leur analyse rapide sont à privilégier. L'utilisation de pilons de plastique pour le broyage des tissus et de tubes mini-colonne avec membrane de silice augmentent grandement l'efficacité d'extraction de l'ADN. Une fois l'ADN extrait, la réussite de l'identification taxonomique peut se faire grâce aux amorces LEP-F1 et LEP-R1 (648 pb) ou LEP-F1 et LEP-R350 (350 pb).

### **OBJECTIF ET MÉTHODOLOGIE**

Les objectifs de ce projet étaient de développer une technique d'identification par codage à barres des papillons ravageurs des cultures pour le laboratoire de diagnostic en phytoprotection du MAPAQ. Le premier objectif visait à obtenir les séquences génétiques de référence à partir d'adultes de papillons capturés dans plusieurs cultures et dans plusieurs régions du Québec. Le deuxième objectif consistait à adapter la méthode d'identification par codage à barres aux stades larvaires d'un ravageur d'importance. Le troisième objectif visait à valider la technique développée par codage à barres sur des larves de ravageurs dans différentes cultures durant les deux ans du projet.

### **RÉSULTATS SIGNIFICATIFS POUR L'INDUSTRIE**

#### **Établissement des spécimens de référence**

Sur 328 spécimens adultes de papillons capturés, 60 % ont pu être correctement analysés par codage à barres ADN avec les amorces LEP-F1 et LEP-R1 (648 pb). Les résultats ont montré que la conservation prolongée des spécimens adultes en collection avant l'extraction et l'utilisation de plaque AcroPrep™ de 96 puits diminuaient grandement les réussites d'extraction. Cependant l'utilisation d'amorces plus courtes LEP-F1 et LEP-R350 (350 pb) permettaient tout de même d'obtenir une identification taxonomique dans presque 100 % des cas selon les espèces ciblées qui n'avaient pas obtenus de résultats positifs avec les amorces LEP-F1 et LEP-R1.

#### **Adaptation méthodologique aux larves**

Les résultats ont montré que le broyage des tissus avec des pilons de plastique associé à l'utilisation de tubes mini-colonne augmente la réussite de l'extraction de 20 % comparativement à l'utilisation de plaque AcroPrep™ de 96 puits. Également, la quantité optimale de tissus larvaire à utiliser pour l'extraction est de 2 à 4 mm<sup>3</sup>.

#### **Validation de la technique**

Sur 295 larves récoltées, l'utilisation du protocole de codage à barres ADN a permis une réussite d'identification taxonomique de 96 % pour les spécimens dont l'ADN a été extrait avec succès. L'extraction de l'ADN est également une étape critique pour les spécimens larvaires.

### **APPLICATIONS POSSIBLES POUR L'INDUSTRIE**

La technique d'identification par codage à barres ADN développée dans ce projet pourra répondre dès maintenant aux demandes d'identification envoyées au laboratoire de diagnostic en phytoprotection du MAPAQ par les agronomes et conseillers des cultures au Québec. Plusieurs étapes critiques du protocole ont pu être identifiées et des recommandations ont été énoncées pour obtenir un gain maximal d'efficacité lors du processus d'analyse des échantillons.

### **POINT DE CONTACT**

Daniel Cormier

Institut de recherche et de développement en agroenvironnement (IRDA)

335, rang des Vingt-cinq Est,

Saint-Bruno-de-Montarville (Québec) J3V 0G7

Téléphone : 450 653-7368, poste 360;

Télécopie: 450 653-1927

Courriel : [daniel.cormier@irda.qc.ca](mailto:daniel.cormier@irda.qc.ca)

### **PARTENAIRES FINANCIERS**

Ce projet de recherche a été réalisé grâce à la contribution financière du MAPAQ par le biais du Programme de soutien à l'innovation en agroalimentaire (PSIA).